

# Antibiotikumok



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

---

---

---

---

---

---

---

---

## Mik is az antibiotikumok?

Mikroorganizmusok által termelt szekunder metabolitok, melyek más mikroorganizmusokat elpusztítanak vagy gátolják fejlődésüket.

Másodlagos anyagcseretermékek:

Termelésük nem kapcsolódik közvetlenül az energia-termeléshez, a növekedéshez. Csak a tenyésztés késői szakaszában indul meg, általában valamilyen tápanyag limit kialakulásával – „kínjában termeli”. Hasznosságuk csak közvetett, termelésük sokszor látszólag értelmetlen.

Lehetnek például: antibiotikumok, pigmentek, nyálkaanyagok, tokanyagok, toxinok, stb.



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

2

---

---

---

---

---

---

---

---

## Szekunder metabolizmus

Szénforrás szabályozás: katabolit represszió – ha bőségesen van hozzáférhető C-forrás, akkor az elsődleges anyagcsere pörög, nincs termékképzés. →

- glükóz limit (adagolás apránként), vagy
- lassan metabolizálható C-forrás, pl. poliszacharidok (keményítő, dextrin), laktóz, növényi olajok.

Nitrogén szabályozás: változó, de a sok N általában a növekedésnek kedvez → elsődleges anyagcsere

- Az ammónium sók gyakran represszálják a termékképzést, inkább szerves N-forrás (szójaliszt, kukoricalekvár)
- fed batch – adagolással alacsony szinten tartani a koncentrációt.



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

3

---

---

---

---

---

---

---

---

## Szekunder metabolizmus

### Foszfor szabályzás:

- befolyásolja mikroba növekedési sebességét, annak mértékét, szénhidrát égetésének sebességét
  - bizonyos koncentráció felett negatívan szabályoz, (hozzájárul a gyors C égetéshez)
  - túl nagy koncentrációja a szintetáz enzimek képződését gátolja
- alacsony indulási P koncentráció, csak annyi, hogy a szaporodási szakasz végére elfogyjon.

### Enzim indukció:

- A kulcsenzimek némelyike indukálható speciális tápanyaggal pl: metionin → cephalosporin



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

4

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

## Az antibiotikumok alkalmazási területei

Humán gyógyászat: mikrobiális fertőzések gyógyítására (a hatékony koncentrációban az emberi szervezetet ne károsítsa)

Rákellenes antibiotikumok: citosztatikus hatásúak, a kemoterápia eszközei

Állatgyógyászat

Állattenyésztésben: takarmány-adalékként

Biokémiai, mikrobiológiai kutatásokban (szelektív inhibitorok)

Növénypatogének ellen - mezőgazdaságban (egyre kevésbé)

Élelmiszeriparban – konzerválás (egyre kevésbé)



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

5

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

## Egy kis történelem

1889 - antibiózis ↔ szimbiózis (Viullemín)

1912 - Salvarsan, szerves arzén származék, vérbaj ellen, (Ehrlich-Hata)

1936 - Szulfonamidok (p-amino-szulfonsav-amidok), Domagk

1929 – penicillin észlelése, Fleming

1944 – a penicillin ipari gyártása, szubmerz tenyésztésben

1944 – 1960 új antibiotikumok felfedezésének korszaka

1950 → félszintetikus származékok

1990 → nincsenek új molekulák, a szabadalmak lejártak → generikus terméké váltak, verseny a piacon.



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

6

---

---

---

---

---

---

---

---


---

---

## Antibiotikumok

Az elmúlt 80 évben kb. 12-13 ezer antibiotikumot fedeztek fel. A humán gyógyszer piacon ebből ~2-300 molekula van. Ennek ~10 %-át gyártják tisztán fermentációs úton, ~80 %-ot ezek kémiai módosításával, félszintetikusán, néhányat szintetikusán.

Miért ilyen kevés? - toxicitás  
 - nem elég hatásos, van nála jobb  
 - mellékhatások  
 - rezisztencia



7

BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

---

---

---

---

---

---

---

---

## Termelő mikroorganizmusok

Sugárgombák (*Actinomyces*, elsősorban *Streptomyces*) → ~ 65 %

Egyéb baktériumok → ~ 12 %

Fonális gombák (elsősorban *Penicillium*, *Cephalosporium* törzsek) → ~ 22 %





8

BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

---

---

---

---

---

---

---

---

## Az antibiotikumok csoportosítása

Csoportosítani lehet

- » kémiai szerkezet
- » hatásmechanizmus, támadáspont
- » hatásspektrum
- » bioszintézis út
- » orvosi alkalmazás szerint

Mi most: 1. támadáspont  
 1.1. kémiai szerkezet szerint tárgyaljuk



9

BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

---

---

---

---

---

---

---

---

## Mikrobák ellenállóképessége

**Természetes rezisztencia:**  
 állandó, örökletes tulajdonság, specieszekre, nagyobb rendszertani egységekre jellemző

**Szerzett antibiotikum-rezisztencia:**  
 természetes érzékenységi spektrum örökletes megváltozása generációk között – egy fajon belül is lehet egyedenként különböző

Ez is lehet antibiotikum csoportosítási szempont!



10

---

---

---

---

---

---

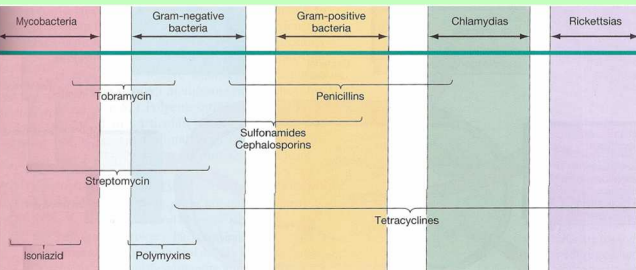

---

---

---

---

## Mikrobák érzékenysége

11

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---


## A szerzett rezisztencia formái

1. A céltárgy (fehérje, receptor) megváltozása
2. A sejtmembrán átjárhatóságának megváltozása (permeabilitási mutáns, nem jut be a molekula)
3. Enzimes inaktiválás (bontás, vagy származékképzés)

A genetikai változás történhet kromoszóma vagy plazmid szinten.

**Penicillin típusú rezisztencia:** fokozatosan alakul ki, generációról generációra.

**Sztreptomycin típusú rezisztencia:** ugrásszerűen alakul ki, általában egy plazmid megjelenésével.



12

---

---

---

---

---

---

---

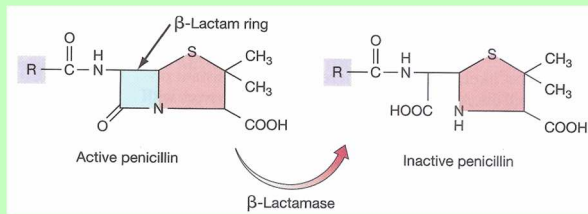
---

---

---

## A penicillin enzimes inaktiválása

A  $\beta$ -laktamáz enzimek (sokféle van) felnyitják a négytagú gyűrűt.



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

13

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

## Csoportosítás hatásmechanizmus szerint:

Sejtfal szintézist gátlók – peptidoglükán szintézist befolyásolják (penicillin, bacitracin, vankomicin)

Fehérjésintézist gátlók – tetraciklinek, sztreptomycin, eritromicin

Sejtmembránra hatók – poliének, ciklopeptidok

DNS függő RNS polimerázra hat – rifampicin

DNS replikációra hatnak - citosztatikumok



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

14

---

---

---

---

---

---

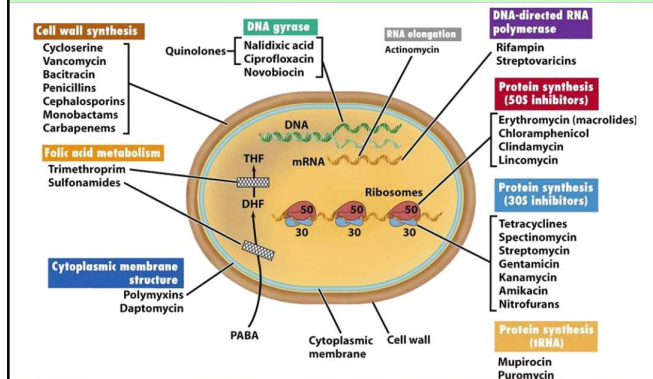
---

---

---

---

## Csoportosítás hatásmechanizmus szerint:




---

---

---

---

---

---

---

---

---

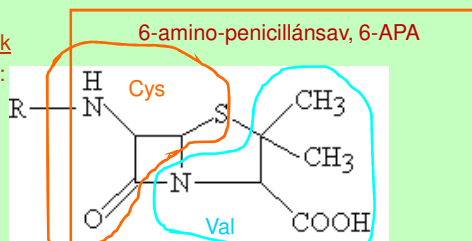
---

## A. SEJTFALSZINTÉZIST GÁTLO ANTIBIOTIKUMOK

### I. $\beta$ -LAKTÁM VÁZAS ANTIBIOTIKUMOK (PENICILLIN CSOPORT)

Penicillinek

Szerkezet:



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

16

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

### A penicillin tulajdonságai

Fizikai: színtelen, vízben jól oldódik, 3 aszimmetria-centrum (= forgatás), nincs UV elnyelése

Kémiai: gyenge sav, alkáli sóit forgalmazzák

**BOMLÉKONY!** Savak, lúgok és enzimek hatására többféle reakcióban is gyorsan bomlik.

Analitikai reakciók: - jód oldattal titrálható

- hidrazin + Fe ionokkal színreakció

1 biológiai egység: 50 ml-nyi standard összetételű tápoldatban éppen meggátolja egy adott *Staphylococcus aureus* törzs szaporodását.

1 IU = 0,6  $\mu$ g G-penicillin Na sónak felel meg.



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

17

---

---

---

---

---

---

---

---

---

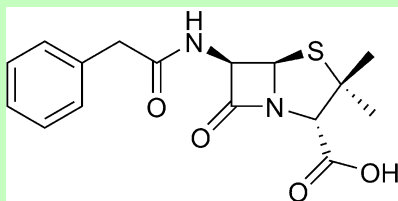
---

### G-penicillin/benzil-penicillin

Az R oldallánc fenilecetsav

Ez a fermentált alpmolekula, ebből gyártják a többit.

Savra érzékeny vegyület, a gyomorsav elbontja, ezért szájon át nem szedhető, csak kapszulában.



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

18

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

### A penicillin story

1929 A. Fleming, kioltási gyűrű, *Penicillium notatum*  
 izolálás, tisztítás, szerkezet-felderítés nehezen ment

1940 hadianyaggá válik

1943 klinikai kipróbálás felületi tenyészet, *Penicillium chrysogenum*

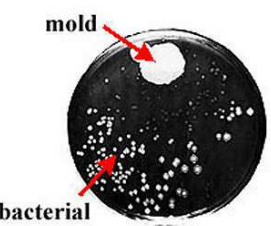
1944 2,5 tonna szubmerz tenyészet, mutációs törzsjavítás

1946 32 tonna

1952 Magyarországon is, GYOKI


1980 kb. 30.000 tonna

**Fleming's original plate:**



**mold**

**bacterial colonies**



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

19

---

---

---

---

---

---

---

---

---

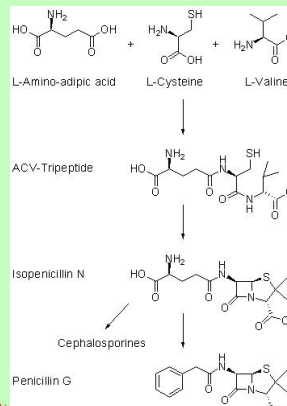
---


### A penicillin bioszintézise

Három aminosavból alakul ki egy tripeptid.

Többszöri gyűrű-átrendeződések után alakul ki a  $\beta$ -laktám váz.

A templát  $\alpha$ -amino-adipinsav, a végén lecserélődik egy másik savra, felszabadul és visszakerül a folyamat elejére.





BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

---

---

---

---

---

---

---

---


---

---

### A penicillin gyártás fejlesztése

Fermentációs úton, a szintézis nem gazdaságos.  
 A gyártás fejlesztése két fő irányban folyt:

Törzsmunka (biológia):	Technológia (mérnöki):
– törzsiszolálás	– Felületi/szubmerz
– indukált mutáció	– Prekurzorok (4-8 x)
– szelekció	– tápdatooptimálás
– törzsfenntartás	– anyagcsereszabályozás (cukorlimit, C/N, Fe ion)
	– Levegőztetés, reaktor
	– Szabályozások (pH, t)



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

21

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

## Törzsnemesítés

### Célok:

- hozamnövelés,
- fermentációs illetve feldolgozási kritériumok szerinti hatékonyság növelés
- az eredeti pigment-termelés megszüntetése

### Eszközök:

- a génmanipuláció igen bonyolult (sok gén vesz részt a folyamatban), a titernövekedés túlnyomó részét a régi (65 év – több ezer lépés) mutációs–szelekciós törzsjavítással érték el (~2-3 ppb  $\rightarrow$  ~50.000 ppb)



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

22

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

## Fermentáció

Jellegzetes szekunder metabolit fermentáció, két szakasza van:

Első szakasz (kb. 40 h): a sejtek elszaporítása, jó tápanyag-ellátás intenzív levegőztetés, keverés, elsődleges anyagcsere.

Tápanyagforrások az első szakaszban:

- szénforrások: néhány % cukor (glükóz, melasz), ami a szaporítás végére elfogy
- nitrogén: ebben a szakaszban még lehet  $\text{NH}_4$  sók formájában, de jó, ha a végére elfogy
- foszfor: foszfátként annyit kell bemérni a tápoldatba, hogy éppen elfogyjon a szaporodás végére



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

23

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

## Fermentáció

Második szakasz, termelő fázis: 120-160 h, többszörös tápanyag limit, kikényszerített másodlagos anyagcsere.

Tápanyagellátás a második szakaszban:

- Szénforrás: limitáció (régén: nehezen bontható vegyületek (laktóz, keményítő), ma glükóz adagolás apránként, vagy program szerint, vagy az oldott oxigén szint alapján)
- nitrogén: szerves N-vegyületek, fehérje formájában: szójadara, mogyoróliszt, esetleg kazein, halliszt, emellett  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4 \rightarrow$  apránként adagolva, kis koncentrációt tartanak – az N és S beépül a termékbe.
- Foszfát: jelenlétében nem megy a másodlagos anyagcsere, ezért elfogyása után nem adagolnak többet
- Prekurzor: fenil-ecetsav, mérések alapján adagolják, koncentrációját a 2-4 g/l sávban tartják.



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

24

---

---

---

---

---

---

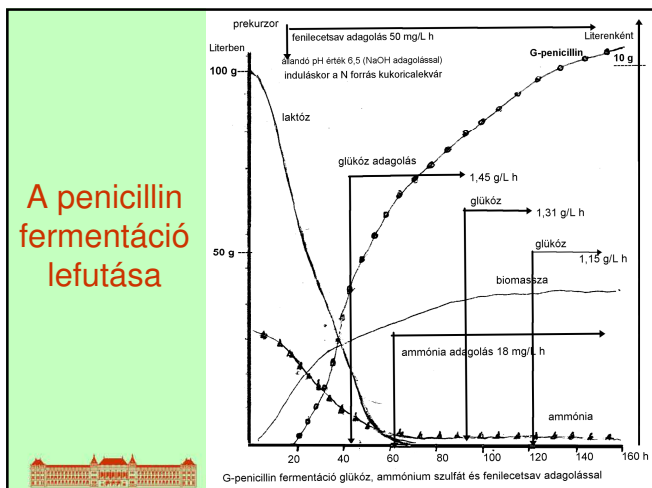
---

---

---

---






---

---

---

---

---

---

---

---

## Feldolgozás

Extracelluláris termék, csak ~1% található a micéliumban

Kulcslépés: **EXTRAKCIÓ**

A penicillin gyenge sav, a disszociált formája jól oldódik vízben, a nem-disszociált viszont szerves oldószerben. Az extrakcióhoz vissza kell szorítani a disszociációt (erősebb savval, pl. kénsav) – de: savas közegben bomlik!

Megoldás: - hűtés, - rövid kontaktidő (kis méretű, folytonos reaktorban, aztán gyorsan szétválasztani szeparátorral)

Észtér típusú oldószerek (BuOAc, amilacetát)

Reextrakció semleges vagy lúgos vizes fázissal

Kristályosítás K- vagy Na-só formájában

Pigmentek eltávolítása aktív szénnel



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

26

---

---

---

---

---

---

---

---

## Félszintetikus penicillinek

**Előállítás:** oldallánc cserével 6-APA-n keresztül

A 6-APA előállítása: - G penicillin enzimes bontásával

- direkt fermentációval

- kémiai bontás

A 6-APA is nagyon bomlékony, tárolás közben polimerizál, és reagál a légköri CO<sub>2</sub>-dal is.

Acilezés: - enzimesen

- kémiailag

Enzimes folyamatok: ld. a penicillin-amidáz/aciláz -nál



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

27

---

---

---

---

---

---

---

---

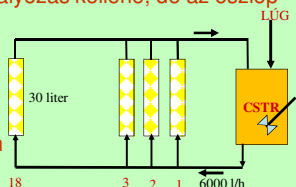


## Penicillin hidrolízis

A reakció tulajdonságai: erős S és P inhibíció, a szakaszos nem jó. Kiszámolták, hogy a töltött oszlop a legjobb. De:

A felszabaduló fenilecetsav miatt a pH csökken, ettől a 6-APA bomlik. pH-szabályozás kellene, de az oszlopreaktorban nem megy.

Toyo-Ozo eljárás:  
recirkulációs, pH szabályozás a tartályban,  
ciklusidő: 30 óra,  
produktivitás: 33 kg/m<sup>3</sup>h  
konverzió: 86%



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

31

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

## Félszintetikus penicillinek

### Szerkezet - tulajdonságok összefüggése:

savtűrés: elektronszívó csoportokkal lehet védeni a savamid kötést.

penicillináz rezisztencia: sztérikus védőcsoportok

hatásspektrum változtatás: -NH<sub>2</sub>, -COOH, észter csoportok



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

32

---

---

---

---

---

---

---

---

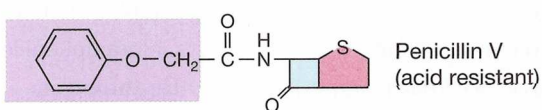
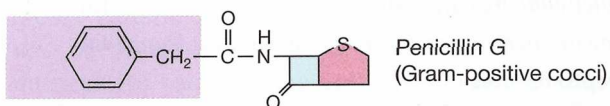
---

---

## Félszintetikus penicillinek

### Fermentált alapvegyületek:

#### Natural penicillins



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

33

---

---

---

---

---

---

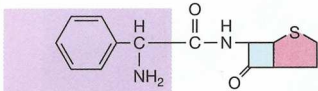
---

---

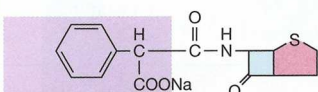
---

---

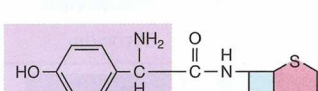
### Félszintetikus penicillinek




**Ampicillin**  
(broad spectrum,  
acid resistant)



**Carbenicillin**  
(broad spectrum)



**Amoxicillin**  
(broad spectrum)



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

34

---

---

---

---

---

---

---

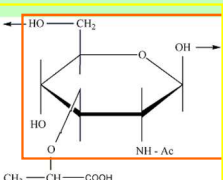
---

### Hatásmód


- csak a szaporodókat pusztítja el (nyugvósejteket nem, → szelekció)
- a felszintézist gátolja (abnormális alakok, protoplasztok)

A hatásmechánizmus megértéséhez ismételjük át a bakteriális sejtfal szerkezetét és bioszintézisét.

**N-acetil-murámsav, AM**



**N-acetil-glükózamin, AGA**



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

35

---

---

---

---

---

---

---

---

### A Gram-pozitív sejtfal szerkezete

lizozim

↓

← AM—AGA—AM—AGA—AM—AGA—AM → alaplánc

|

L-Ala

|

D-Glu


|

Gly—Gly—Gly—Gly—Gly—L-Lys—D-Ala—D-Ala

↓

↓

térhálósodás



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

36

---

---

---

---

---

---

---

---

### A Gram-pozítív sejtfal térhálósítása

- ◻ N-acetylglucosamine
- D-alanine
- L-amino acid
- Glycine

37

BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

### A penicillin a D-Ala-D-Ala láncvég szerkezet-analóga

penicillin

D-Ala-D-Ala

Irreverzibilisen kapcsolódik a transzpeptidázhoz → a falszintézis leáll → ionkiáramlás

38

BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

### A penicillin hatásmechanizmusa

keresztított glikopeptid

39

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

## A penicillin orvosi tulajdonságai

Hatásspektrum: elsősorban Gram + ellen, a modern fél-szintetikus származékoké szélesebb

Rezisztencia: fokozatosan, sok generáció után jelenik meg (penicillin típusú rezisztencia)

Bevitel: a savérzékenyek (pl. G) szájon át nem adhatók, a többi bárhogy

Adagolás: pl.: Maripen: 500.000 IU/tabletta 3x /nap

Penicillin érzékenység: régen a szennyezések miatt, ma valódi allergia (haptének)



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

40

---

---

---

---

---

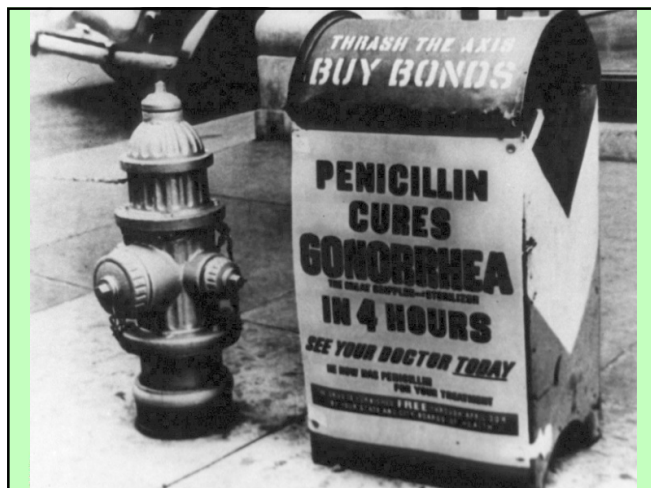
---

---

---

---

---




---

---

---

---

---

---

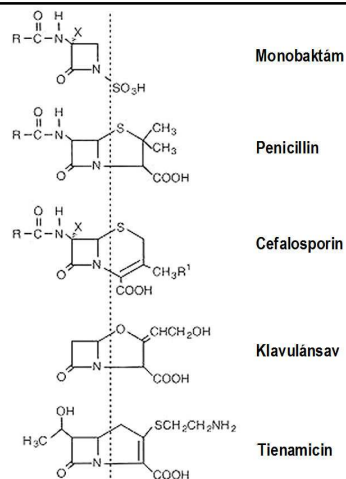
---

---

---

---

## További $\beta$ -laktám vázak



BME Alkal

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

## Cefalosporinok

Brotzu (1948),  
*Cephalosporium acremonium*

Cephamicinek: 7-OMe

Oldalláncok:  
 R =  $\alpha$ -amino-adipinsav, X=CH<sub>2</sub>OAc - Cephalosporin C  
 R = fenil-glicin, X=CH<sub>2</sub>OAc - Cephalexin  
 4 generációban közel ötven félszintetikus molekula

BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék 43

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

## A cefalosporinok

Előállítása:

- *C. acremoniummal* Cef-C fermentáció, ebből oldallánc cserével félszintetikus származékok
- V-penicillinből 3 kémiai lépéssel ki lehet tágítani a gyűrűt cefémsavvá, aztán oldallánc csere

Tulajdonságai:

- Stabilitásuk jobb, mint a penicillineké
- Hatásspektrumuk szélesebb
- Rezisztensek sok penicillinázra (de vannak más  $\beta$ -laktamázok, amelyek specifikusan ezt bontják)

BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék 44

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

## A cefalosporinok előállítása

Bioszintézis: a penicillinéből ágazik el –  $\alpha$ AAA, Cys, Val

Anyagcsere-szabályozás:

- katabolit-represszió: nehezen bontható cukrok, illetve szabályozott glükóz adagolás
- N- és P-szint: alacsonyan tartani, szabályozni, vagy MgO adagolás  $\rightarrow$  MgNH<sub>4</sub>PO<sub>4</sub>, rosszul oldódó só
- Cys prekursor: lizálja a sejteket, ezért inkább tioszulfát, erre rezisztens mutánsok
- $\alpha$ AAA prekursor: drága, inkább Lys, vagy kadáverin
- amino-donorok: 1,3-diamino propán, dimetil-formamid

BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék 45

---

---

---

---

---

---

---

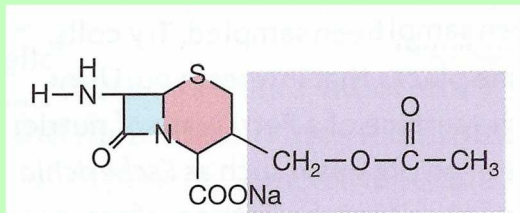
---

---

---

## A cefalosporinok előállítása

Az oldallánc-csere kémiai is megoldható (stabilabb az alapmolekula), a köztitermék a 7-ACS  
7-ACS-ból a C-7 és C-3-as szénen történő származékképzéssel sokféle félszintetikus termék állítható elő.



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

46

---

---

---

---

---

---

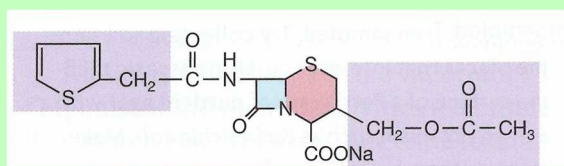
---

---

---

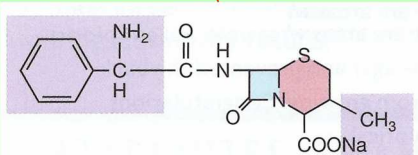
---

## Első generációs cefalosporinok



Pl.: Cephalothin

Cephalexin



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

47

---

---

---

---

---

---

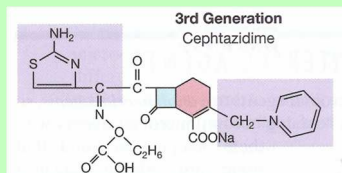
---

---

---

---

## További példák további generációkból

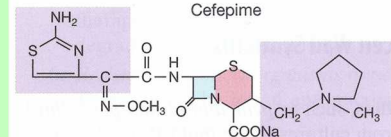


3rd Generation

Cephtazidime

4th Generation

Cefepime



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

48

---

---

---

---

---

---

---

---

---

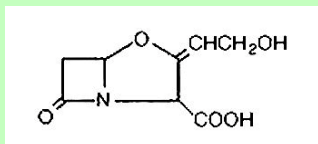
---



## Klavulánsav

Nincs antibiotikus aktivitása!

Penicillinekkel együtt adagolják, mert szerkezetanalógja penicillineknek  $\rightarrow$  kompetitív inhibícióval gátolja a bontó enzimeket (penicillináz, béta-laktamáz)  $\rightarrow$  rezisztens törzsek elpusztítására is alkalmas.



---

---

---

---

---

---

---

---